Über die Bestandtheile der Bohnen von Soja hispida.

Von Dr. **E. Meissl** und **F. Böcker.**

(Vorgelegt in der Sitzung am 19. April 1883.)

Zu den in unserer Region schon seit langer Zeit cultivirten Hülsenfrüchten kam in den letzten Jahren noch die aus Japan eingeführte Sojabohne hinzu, die mit den Übrigen nicht nur den hohen Gehalt an Eiweisskörpern gemein hat, sondern sich überdies durch einen grossen Fettreichthum auszeichnet. Nachdem es bereits gelungen ist, dieselbe erfolgreich zu acclimatisiren, so dürfte sie ihrer Zusammensetzung nach dereinst auch bei uns eine grosse Rolle als Nahrungsmittel für Menschen und Thiere spielen. Fehlt es gegenwärtig auch noch an einem geeigneten Verfahren, sie für den menschlichen Genuss schmackhaft zuzubereiten, so ist dagegen die gute Verwendbarkeit der Soja zur Fütterung und Mast der landwirthschaftlichen Nutzthiere durch einige von verschiedenen Seiten ausgeführte Versuche schon genügend bewiesen. Ein derartiger Mastversuch gab uns den ersten Anstoss zur näheren Untersuchung der Sojabohne, wozu wir uns um so mehr gedrängt fühlten, als trotz der unläugbaren Bedeutung derselben für die Ernährung ausser einigen nach der bekannten Schablone ausgeführten Futteranalysen nichts über die Zusammensetzung derselben bekannt war. Wir haben bei unseren Untersuchungen, zu welchen verschiedene Sorten der gelben und braunen Varietät von Soja hispida der Ernte 1879[1] verwendet wurden, namentlich die stickstoffhältigen Bestandtheile als die Wichtigsten, eingehender berücksichtigt, aber auch die Übrigen nicht ausser Acht gelassen. Die Vorbereitung der Sojabohnen für die Analyse bot insofern einige Schwierigkeit als, sich dieselben

[1] Die hier mitzutheilenden Versuche wurden bereits im Frühjahre 1880 ausgeführt, deren Publication aber aus verschiedenen Ursachen bis jetzt verzögert.

wegen ihres hohen Fettgehaltes nicht zerkleinern liessen. Dieselben wurden desshalb vorerst schwach gequetscht und um allen Veränderungen der stickstoffhältigen Bestandtheile durch Wärme möglichst vorzubeugen, bei Zimmertemperatur, mit Äther extrahirt. Die von Fett etc. befreite und an der Luft getrocknete Substanz liess sich dann leicht mahlen und diente in diesem Zustande zur Darstellung und Prüfung der nicht in Äther löslichen stickstoffhältigen und stickstofffreien Bestandtheile.

A. Die stickstoffhältigen Bestandtheile.

Zur Darstellung und Trennung dieser Bestandtheile wurde das Sojapulver den nachfolgenden Behandlungen unterworfen.

I. Behandlung mit Alkohol.

An heissen und kalten Weingeist von verschiedener Stärke gibt die entfettete Soja nahezu gar nichts, die nicht mit Äther extrahirte nur geringe Mengen von stickstofffreien Körpern ab. Die Soja enthält demnach keine Kleberproteïnstoffe, zeigt also in dieser Beziehung dasselbe Verhalten wie die von Ritthausen[1] untersuchten Hülsenfrüchte und Ölsamen.

II. Behandlung mit reinem Wasser.

a) Zur Prüfung auf etwa vorhandene Ammoniakverbindungen und Amidokörper wurde die Soja mit Wasser gekocht, das Extract mit verdünnter Essigsäure vorsichtig gefällt und filtrirt. Die abgelaufene Lösung gab mit essigsaurem Kupfer eine schwache, grüne Fällung, welche den letzten Rest der eiweissartigen Körper einschloss. Das eiweissfreie Filtrat hievon wurde mit Schwefelwasserstoff vom Kupfer befreit, unter Zusatz von etwas Salzsäure eingeengt und im Azotometer mit unterbromigsaurem Natron behandelt. Hiebei entwickelte sich nur eine sehr geringe Menge Stickstoff, woraus hervorging, dass die Soja nur äusserst wenig Ammoniak oder Amidverbindungen enthielt, von denen es noch dazu fraglich blieb, ob sie nicht erst während der Untersuchung entstanden. Es ist also nahezu der gesammte Stickstoff in Form von Eiweiss oder eiweissartigen Körpern in der Soja vorhanden.

[1] Die Eiweisskörper der Getreidearten, Hülsenfrüchte und Ölsamen. Bonn 1872.

b) Digerirt man das Sojapulver bei niedriger Temperatur einige Stunden lang mit reinem Wasser, so erhält man eine trübe amphoter oder schwach alkalisch reagirende Lösung, aus welcher auf Zusatz von verdünnter Säure eine nicht unbeträchtliche Menge eines Proteïnkörpers fällt. Das von diesem flockigen Niederschlage ablaufende Filtrat scheidet beim Kochen wenig einer zweiten stickstoffhältigen Substanz aus. Sowohl der durch Säuren fällbare als auch der beim Erhitzen coagulirende Eiweisskörper erwiesen sich identisch mit den auf eine der folgenden Arten gewonnenen Präparaten.

III. Behandlung mit kalihaltigem Wasser.

Dieses zuerst von Ritthausen[1] zur Auflösung und Reindarstellung der Eiweisskörper der Ölsamen benützte Verfahren wurde auch von uns mit dem besten Erfolge zur Gewinnung grösserer Mengen der Eiweisssubstanzen der Soja angewendet. Zu diesem Behufe übergossen wir je 500 Gr. Sojapulver mit 25 Liter einer 0·1%igen Kalilauge und liessen damit bei Temperaturen von weniger als 10° unter öfterem Umrühren stehen. Die Auflösung erfolgt sehr schnell, so dass schon nach einigen Stunden mit dem Filtriren der ziemlich klaren Lösung begonnen werden konnte. Anfangs geht dies sehr rasch von Statten, bald aber verstopft sich das Filter und es tropft fast nichts mehr ab. Durch Vertheilung auf viele Faltenfilter und öfteres Auswechseln des Papiers gelang es uns dennoch, diese Operation derart zu beschleunigen, dass im Verlaufe weniger Stunden die ganzen 25 Liter durchgelaufen waren. Das klare Filtrat wurde hierauf mit verdünnter Essigsäure oder Schwefelsäure so lange versetzt als noch ein Niederschlag entstand. Die in reichlicher Menge ausgeschiedenen Flocken (Caseïn) setzten sich bald zusammen und die darüber stehende, sauer ragirende Flüssigkeit klärte sich nahezu vollständig. Wurde diese abgehebert und zum Kochen erhitzt, so schieden sich neuerdings, jedoch in geringerer Quantität, Flocken eines Eiweisskörpers (Albumin) ab. Im Filtrat hievon erzeugen Kupfersalze direct einen grünen flockigen Niederschlag, der aber nur ziemlich wenig Stickstoff enthält.

---

[1] A. A. O.

Die Mutterlauge von dieser Fällung endlich gibt beim Neutralisiren mit Kalilauge nochmals eine blaugrüne Ausscheidung, die ausser phosphorsaurem Kupfer ebenfalls stickstoffhältige Substanzen einschliesst. Durch die Einwirkung von verdünnter Kalilauge auf entfettetes Sojapulver gehen also Eiweisskörper in Lösung, die sich durch den eben beschriebenen Vorgang in vier Partien zerlegen lassen, nämlich 1. in eine durch verdünnte Säuren fällbare, 2. durch Kochen coagulirende, 3. durch Kupfersalze in schwachsaurer und 4. durch Kupfersalze in neutraler Lösung fällbare. Der durch verdünnte Säuren abscheidbare Antheil beträgt mehr als 80% der überhaupt in den alkalischen Extract übergegangenen stickstoffhältigen Substanzen. Von diesem Niederschlage wurde etwa $^1/_3$ mit Wasser ausgewaschen, dann, um das Wasser zu verdrängen und etwa noch anhaftendes Lecithin, Fett und dergleichen zu entfernen, der Reihe nach mit schwachem und absolutem Alkohol, Äther und zuletzt wieder mit absolutem Alkohol ausgeschüttelt, schliesslich im Vacuum bei gewöhnlicher Temperatur getrocknet. Das so erhaltene Product stellte ein weisses lockeres Pulver dar. Die restlichen zwei Drittel wurden behufs weiterer Reinigung, und um die Entscheidung zu ermöglichen, ob die Substanz einheitlich oder ein Gemisch sei, nochmals in Kaliwasser gelöst und durch fractionirte Fällung mit verdünnter Schwefelsäure in zwei Theile getrennt, von denen jeder für sich aufgesammelt und wie die erste Partie mit Alkohol und Äther gereinigt wurde. Wie hier gleich bemerkt werden mag, stimmten diese beiden Fraktionen sowohl unter einander als auch mit dem direct gefällten und nicht nochmals gelösten Niederschlage in allen Eigenschaften überein. Die in Kalilauge lösliche und daraus durch Säuren wieder abscheidbare Eiweisssubstanz der Soja ist demnach kein Gemenge, sondern nur ein einziger einheitlicher Körper, und zwar, wie aus dem ganzen Verhalten hervorgeht, Caseïn. Den aus der Mutterlauge des Caseïns durch Kochen coagulirten eiweissartigen Bestandtheil sammelten wir, reinigten und trockneten ihn in gleicher Weise wie das Caseïn. Beide Kupferniederschläge lösten wir nochmals in verdünnter Kalilauge und fällten sie wieder durch vorsichtigen Säurezusatz, scheinbar ohne wesentliche Veränderung. Zuletzt wurden sie ebenso wie die vorigen Fällungen mit Alkohol und Äther gereinigt und entwässert.

IV. Behandlung mit 10% iger Kochsalzlösung.

Th. Weil[1] stellte die Behauptung auf, dass die von Ritthausen u. A. durch Extraction mit verdünnter Kalilauge erhaltenen Proteïnkörper keine ursprünglich in der Pflanze vorkommenden, sondern schon Zersetzungsproducte dieser seien. Wir unterliessen es desshalb nicht, auch die von ihm zur Gewinnung unveränderter Proteïnkörper vorgeschlagene Methode für unseren Fall anzuwenden und die erhaltenen Körper mit den auf die frühere Art dargestellten zu vergleichen. Wir verfuhren dabei in der Weise, dass wir das Sojapulver im Mörser mit abgekühlter 10%iger Kochsalzlösung verrieben, den Brei mit derselben Lösung verdünnten, kurze Zeit stehen liessen, dann auf mehrere Filter vertheilten und unter möglichster Beschleunigung filtrirten. Das Filtrat wurde in einen grossen Überschuss von Wasser gegossen; hiebei entstand nur eine schwache Trübung. Durch Einleiten von CO_2 vermehrte sich diese und es schied sich rasch ein feinpulveriger Niederschlag aus. Ohne die Klärung der Flüssigkeit erst abzuwarten, wurde das Abgesetzte durch Decantation von der Mutterlauge getrennt, nochmals in 10%iger Kochsalzlösung gelöst und abermals durch H_2O und CO_2 gefällt. In der Mutterlauge von der ersten durch CO_2 und H_2O bewirkten Fällung erzeugten $CuSO_4 + KHO$ einen ziemlich starken blaugrünen Niederschlag, der sich bald zu Flocken vereinte. Diese lösten sich vollständig in verdünnter Kalilauge, woraus sie durch verdünnte Säuren wieder abgeschieden werden konnten. Nach dem Entwässern mit absolutem Alkohol und Trocknen im Vacuum stellten sie ein lockeres grünes Pulver dar. Der durch CO_2 und H_2O aus der Kochsalzlösung gefällte Eiweisskörper, dessen Menge verhältnissmässig gering war, wurde in 2 Theile getheilt, davon der eine unter der Luftpumpe über Schwefelsäure zu einer gelblichen hornartigen Masse eingetrocknet, der andere, wie vorher das Caseïn, mit Alkohol und Äther von Allem darin löslichen, sowie vom Wasser befreit und im Vacuum bei gewöhnlicher Temperatur getrocknet. Diese Substanz erwies sich, wie gezeigt werden soll, als identisch mit dem durch verdünnte Säuren aus kalihaltigem Wasser gefällten Caseïn. Weil's Behauptung trifft also in unserem Falle nicht zu.

[1] Zeitschrift für physiologische Chemie, Band 1. pag. 98.

V. Behandlung des mit NaCl-Lösung extrahirten Rückstandes mit KHO.

Zur Prüfung ob durch die Behandlung mit 10%iger Kochsalzlösung der in verdünnter Kalilauge lösliche, als Caseïn angesprochene Eiweisskörper der Soja in seinen Eigenschaften eine Änderung erleidet oder nicht, wurden die Extractionsrückstände von der NaCl Lösung in gleicher Weise, wie früher das Sojapulver selbst mit 0·1%iger Kalilauge, digerirt und die filtrirte Lösung mit verdünnter SO_4H_2 gefällt. Der nun erhaltene Eiweisskörper stimmte in allen seinen Eigenschaften sowohl mit dem aus Sojapulver ohne vorhergängige Extraction mit NaCl-Lösung erhaltenen, als auch mit dem aus letzterer Lösung durch CO_2 und H_2O gefällten vollkommen überein. Alle drei Producte müssen demnach als identisch bezeichnet werden.

Eigenschaften und Zusammensetzung des Sojacaseïns.

Das Caseïn zeigt, je nach seiner Bereitungsweise, ein verschiedenes äusseres Ansehen. Durch verdünnte Säuren aus alkalischer Lösung gefällt stellt es grobe Flocken vor, durch H_2O und CO_2 aus NaCl-Lösung abgeschieden bildet es ein feines dichtes Pulver. Es ist dies zugleich der einzige Unterschied zwischen diesen beiden Modificationen, in allen übrigen Eigenschaften zeigen sie vollkommene Übereinstimmung. Eingetrocknet geben beide eine hornartige, spröde, gelbliche Masse, mit Alkohol entwässert, ein weisses leichtes Pulver. Gegen Lösungsmittel zeigt das Caseïn je nach der vorausgegangenen Behandlung ein verschiedenes Verhalten, im frisch gefällten Zustande ist es in allen Reagentien am leichtesten löslich; bedeutend schwieriger besonders in Salzwasser nach längerem Aufbewahren und nach dem Entwässern.

Durch anhaltendes Erhitzen auf 110°, auch durch Kochen mit Wasser, verliert es die Löslichkeit in Salzwasser ganz, in alkalischem Wasser zum grössten Theil. Diese Eigenschaften erklären zugleich, warum die Ausbeute aus alter oder gerösteter Soja sehr gering ist, und machen es ferner wahrscheinlich, dass solche Bohnen schwerer verdaulich sein werden als frische. Beim stärkeren Erhitzen schmilzt das Caseïn, bläht sich auf und verbrennt mit dem bekannten Geruche. Das Sojacaseïn löst sich nur wenig

in reinem Wasser, leicht dagegen in solchem, das eine geringe Menge KHO, NaHO, $Ca(HO)_2$ $Ba(HO)_2$ enthält. Die Lösung in Kaliwasser wird durch Zusatz von concentrirten Salzlösungen gefällt, und zwar nach der Stärke des Niederschlags zu urtheilen, mit dem kräftigst wirkenden beginnend, in nachstehender Reihenfolge: $(NH_4)_2$ SO_4, Na Ac, Na_2 SO_4, Mg SO_4, KNO_3, NH_4 Cl, K Cl, Na Cl. Das letztgenannte fällt blos bei grossem Überschusse und auch dann ist der gallertige Niederschlag nur gering. Verdünnte Salzlösungen bewirken ebenfalls eine Fällung, die aber im Überschusse theilweise, bei Anwendung von Na Cl sogar vollständig löslich ist. Verdünnte Ac, Weinsäure, HCl, H_2SO_4 scheiden aus den alkalischen Lösungen gleichfalls das Caseïn aus, dasselbe löst sich aber im Überschuss der Säure, und zwar am leichtesten in Ac, am schwierigsten in SO_4H_2. Das durch verdünnte NO_3H gefällte Caseïn ist unlöslich in dieser Säure. NO_3H fällt auch das im Überschuss der früher genannten Säuren gelöste Caseïn wieder heraus. Alle diese Reactionen gelingen am Besten, wenn man die alkalische Lösung des Caseïns mit verdünnten Säuren so weit abstumpft, dass dasselbe bereits herauszufallen beginnt, und dann das klare Filtrat hievon benützt. Eine derartige alkalische Caseïnlösung bildet beim Kochen, ähnlich dem Milchcaseïne, eine schwache Haut. Die Lösung des Caseïn im Kalkwasser wird durch Zusatz von 10% Labextract[1] nach einigen Stunden coagulirt; die Lösung im Kaliwasser oder phosphorsaurem Natron scheidet, mit Lab versetzt, erst nach 24 Stunden wenige Flocken ab, die im Überschuss der Kalilauge löslich sind, während das Coagulum aus Kalkwasser unlöslich ist. Ähnlich wie gegen verdünnte Alkalien verhält sich das Sojacaseïn gegen verdünnte Säuren, in welchen es ebenfalls löslich ist, am leichtesten in Ac und PO_4H_3, schwieriger in Weinsäure und HCl, wenig in SO_4H_2 und fast nicht in NO_3H. Diese Lösungen werden gleichfalls durch die oben genannten Salze, ausserdem noch durch concentrirte SO_4H_2, HCl, NO_3H, nicht aber durch PO_4H_3 gefällt. Concentrirte

[1] Das Labextract war ein filtrirter mit 0·1%iger HCl hergestellter Kälbermagenauszug, die Caseïnlösung so gestellt, dass erst die doppelte Menge HCl als im zugesetzten Lab vorhanden war, eine Fällung hervorrief. Wirkungswerth des Labextractes gegen Milch 1:5000.

Säuren auch NO_3H lösen das Caseïn zu klaren, röthlich oder gelb gefärbten Flüssigkeiten. Concentrirte Salzlösungen nehmen fast nichts auf, verdünnte nur wenig, mit Ausnahme des phosphorsauren Natrons, das beträchtliche Mengen Caseïn löst. Nach der Leichtigkeit, mit der sich das Caseïn in Salzen löst, ergibt sich folgende Reihe: Na_2HPO_4, Na Cl, KCl, NH_4Cl, Na_2SO_4, $Mg\,SO_4$, $NaNO_3$, $Na\overline{Ac}$. Die geringe Löslichkeit im salzhältigen Wasser erklärt es, warum bei der Extraction der Soja mit $10^0/_0$iger Kochsalzlösung nur verhältnissmässig wenig Caseïn erhalten wird. Gegen andere hier nicht angeführte Reagentien verhält sich das Sojacaseïn wie alle übrigen Pflanzencaseïne. In seiner Elementar-Zusammensetzung nähert es sich am meisten dem von Ritthausen[1] aus Erbsen, Linsen und Wicken erhaltenen Legumin, wie aus den unten angeführten von Ritthausen und von uns für aschefreie Substanzen gefundenen Mittelwerthen ersichtlich ist. Die procentische Zusammensetzung der verschiedenen Caseïnpräparate aus Soja war folgende:

Präparat	*a*	*b*	*c*	*d*	*e*	Mittel
C	51·03	50·75	50·91	50·72	50·81	50·84
H	6·82	6·92	7·08	—	—	6·94
N	16·12 16·17	16·20	16·22 16·16	16·51 16·37	16·09	16·23
S	—	0·45	0·49	—	—	0·47
O	—	—	—	—	—	24·76
Asche	0·938	0.761	0·765	0·588	—	0·763
P_2O_5	—	—	0·79 0·73	—	—	0·76

[1] A. A. O.

Daraus auf aschefreie Substanz berechnet:

Präparat	*a*	*b*	*c*	*d*	Mittel	Ritthausen's Leguminanalysen	
						ältere[1]	neuere[2]
C...	51·51	51·14	51·30	51·02	51·24	51·48	51·48
H....	6·88	6·97	7·14	—	6·99	7·02	7·02
N.. .	16·30	16.33	16·32	16·55	16·38	16·77	17·13
S....	25·31	0·45	0·49	—	0·47	0·40	0·40
O....		25·11	24·75	—	24·92	24·33	23·97

Die mit *a*, *b*, *c* bezeichneten Präparate waren aus kalihaltigem Wasser durch verdünnte Säuren gefälltes Caseïn u. zw.:

a) direct aus dem klar filtrirten Extracte der Soja durch verdünnte Essigsäure gefällt,

b) 1. Fraction,
c) 2. Fraction } der Fällung mit verdünnter Schwefelsäure in der durch Wiederauflösen eines Theiles von *a* in Kaliwasser, erhaltenen Lösung,

d) aus 10% iger Kochsalzlösung durch Überschuss von H_2O und CO_2 gefällt,

e) aus den Extractionsrückständen von der Behandlung mit 10% iger Na Cl-Lösung durch Kaliwasser gelöst und mit verdünnter SO_4H_2 wieder abgeschieden.

Zur Erläuterung der Tabelle sei noch hinzugefügt, dass sämmtliche Präparate in der pulverförmigen, durch Alkohol und Äther gereinigten und entwässerten Modification untersucht wurden. Die angeführten Zahlen sind bereits Mittel aus mehreren

[1] Ritthausen a. a. O. *p.* 176, Stickstoff nach Will-Varentrapp.
[2] Ritthausen, Pflüger's Archiv 18, p. 236, Stickstoff nach Dumas.

gut stimmenden Analysen, wo sich für einen Bestandtheil bei dem gleichbezeichneten Präparate zwei Zahlen angegeben finden, beziehen sich diese auf zwei separate Darstellungen. Über die einzelnen Untersuchungsmethoden wird noch berichtet werden, hier sei vorläufig blos bemerkt, dass die angegebenen Werthe für den Stickstoff ausnahmslos nach Dumas ermittelt wurden.

Albumin der Soja.

Als solches bezeichnen wir den Eiweisskörper, der sich beim Erhitzen aus den Filtraten vom Caseïn abscheidet. Das Soja-Albumin beginnt bei 60° zu coaguliren, die ausgeschiedenen Flocken lösen sich leicht in verdünnter Kalilauge und werden daraus durch Essigsäure wiedergefällt. Im Überschuss derselben ist das Albumin ebenfalls löslich. Aus dieser essigsauren Lösung wird es durch verdünnte SO_4H_2, NO_3H und durch $NaAc$ niedergeschlagen. In verdünnter SO_4H_2 und NO_3H löst es sich schwierig und nur in der Siedhitze. Durch alle diese Eigenschaften, sowie durch seinen Stickstoffgehalt unterscheidet sich das Soja-Albumin ganz wesentlich von coagulirtem, thierischem Eiweiss, kommt dagegen dem von Ritthausen aus Erbsen dargestellten Albumin sehr nahe. Die bei den verschiedenen Darstellungen erhaltenen Mengen von Soja-Albumin waren nur sehr gering und reichten eben zur Constatirung der erwähnten Eigenschaften und zu einigen Verbrennungen und Stickstoffbestimmungen aus, die, verglichen mit Ritthausen's Zahlen, für Erbsen-Albumin folgendes Resultat ergaben:

	Soja-Albumin	Ritthausen's Erbsen-Albumin
Asche	0·65%	2·65%
	aschefrei:	aschefrei:
C	52·58%	52·94%
H	7·00	7·13
N	17·27	17·14
S	—	1·04

Über die Beziehungen des Soja-Albumins zu dem Caseïn gibt vielleicht folgende Thatsache einigen Aufschluss. Löst man bereits gereinigtes Soja-Caseïn in verdünnter Kalilauge, fällt

unter Vermeidung eines Überschusses vorsichtig mit Essigsäure, filtrirt und erhitzt das Filtrat, so trübt sich dieses durch eine sehr feinflockige Ausscheidung. Wiederholt man mit dem gefällten Caseïn dieselben Operationen noch sechs- bis zehnmal, so erhält man jedesmal im Filtrat vom Caseïn beim Kochen eine Trübung. Diese Trübungen scheinen durch längere Einwirkung und höhere Concentration der Kalilauge vermehrt zu werden. Die trübende Substanz selbst zeigt in ihrem qualitativen Verhalten eine merkwürdige Übereinstimmung mit dem Albumin, so dass sich die Vermuthung aufdrängt, diese Substanz sei identisch mit dem Soja-Albumin und somit dieses selbst nichts weiter als ein Umwandlungsproduct des Caseïns; leider waren die erhaltenen Quantitäten zu gering, um eine eingehendere Untersuchung damit vorzunehmen.

Kupferproteïnniederschläge.

In diese, die nach Umständen von sehr schwankender Zusammensetzung sind, geht blos ein kleiner Theil des Stickstoffes der Soja über. Ein Gemisch der zu verschiedenen Zeiten dargestellten Präparate hatte durch Alkohol gereinigt und entwässert im lufttrockenen Zustande folgende Zusammensetzung:

Präparat	*a*	*b*	*c*
N	4·87%	2·45%	9·18%
CuO + Asche	43·03	48·98	22·78
Wasser	19·23	20·72	15·37

a) aus dem alkalischen Soja-Extract nach der Abscheidung des Caseïns und Albumins aus der nun schwach sauren Lösung durch $CuSO_4$ gefällt;

b) aus dem Filtrat von *a)* beim Neutralisiren mit Kalilauge gefallen;

c) aus dem mit 10%iger Kochsalzlösung erhaltenen Extract der Soja, nach der Abscheidung des Caseïns, durch $CuSO_4$ + KHO gefällt.

Auf die bei 110—115° getrocknete wasser- und aschefreie Substanz bezogen betrug der Stickstoffgehalt:

a	*b*	*c*
12·91%	8·08%	14·84%

Wie aus diesen Zahlen zu ersehen ist, waren die Niederschläge keine reinen Kupferproteïnverbindungen, sondern noch mit beträchtlichen Mengen anderweitiger organischer Substanz verunreinigt. In verdünnter Kalilauge lösten sich sämmtliche Kupferniederschläge mit rothvioletter oder violetter, in verdünnten Säuren mit grüner Farbe; *a* und *c* vollständig, *b* mit Hinterlassung eines geringen, zum grössten Theile aus phosphorsaurem Kupfer bestehenden Rückstandes. Fällt man diese Lösungen abwechselnd mit verdünnten Säuren oder Alkalien, so erzielt man zwar stickstoffreichere Niederschläge, ohne aber jemals reine Proteïnverbindungen zu erhalten, weil immer ein Theil der übrigen organischen Substanzen mit niedergerissen wird. Die wenigstens theilweise gereinigten Verbindungen zeigen in ihrem ganzen Verhalten eine auffallende Übereinstimmung mit jenen Kupferniederschlägen, die entstehen, wenn reines Caseïn in Kalilauge gelöst, mit Essigsäure gefällt und das Filtrat hievon mit Kupfersalzen versetzt wird. Diese Kupferniederschläge enthalten das der Fällung mit Essigsäure entgangene Caseïn, welches sich in der bei der Neutralisation gebildeten verdünnten Salzlösung gelöst hatte und daraus durch Kupfersalze niedergeschlagen wurde. Die im Sojaextracte entstandenen Kupferniederschläge wurden auf ähnliche Weise erhalten und besassen, wie erwähnt, gleiche Eigenschaften, wesshalb die Ansicht gerechtfertigt erscheint, dass auch diese nichts anderes als Caseïnverbindungen waren. Dafür spricht auch der Umstand, dass sie um so reichlicher ausfielen, je salzreicher die Caseïnlösung und je leichter löslich das Caseïn bei Gegenwart des bei der Neutralisation gebildeten Salzes war.

Vertheilung des Stickstoffes in der Soja.

Um ein ungefähres Bild der Vertheilung der einzelnen stickstoffhaltigen Bestandtheile in der Soja zu erhalten, haben wir gewogene Mengen frischer Bohnen in der beschriebenen Weise entfettet und die fein gepulverte Substanz mit Kaliwasser bei möglichst niedriger Temperatur erschöpft. Aus den filtrirten Extracten wurde das Caseïn und Albumin jedesmal sofort abgeschieden und auf einen gewogenen Filter gesammelt, dann die davon abgelaufenen sauren Filtrate vereinigt und mit $CuSO_4$+KHO

gefällt; endlich die vom Kupferniederschlage befreite Flüssigkeit eingeengt und in einem aliquoten Theil der Stickstoff bestimmt. Auf solche Art erhielten wir im Mittel mehrerer Bestimmungen aus 100 Theilen nicht entfetteter lufttrockener Soja mit 6·45% Stickstoff:

1. Caseïn	27·6%	mit	4·51%	Stickstoff
2. Albumin	0·5	„	0·09	„
3. Proteïnsubstanz (Caseïn) durch CuO+KHO gefällt	2·5	„	0·41	„
4. Nicht eiweissartige stickstoffhältige Substanz im Filtrat vom Kupferniederschlage	?	„	0·22	„
5. In Kaliwasser unlöslicher Rückstand	25·0	„	1·13	„
6. Fett	18·1	„	—	„
7. Wasser	9·9	„	—	„
8. Stickstofffreie in Kaliwasser lösliche Substanz und Verlust	16·4	„	0·09	„
Soja . .	100·00%	mit	6·45%	Stickstoff.

Von 100 Theilen in Kaliwasser löslichem Stickstoffe entfallen auf:

Caseïn	86·3
Albumin	1·7
Proteïn in den Kupferniederschlägen	7·8
Nicht eiweissartige Substanzen	4·2
	100·0

Auffallend in diesen Zusammenstellungen sind zunächst die relativ grossen Mengen von Stickstoff in Form von Kupferniederschlägen und nicht eiweissartigen Substanzen, die aber ungezwungen ihre Erklärung darin finden, dass sich einerseits beim wiederholten Extrahiren grössere Flüssigkeitsmengen ansammeln, in welchen beim Herausfällen des Caseïns Salze entstehen, die einen entsprechenden Theil desselben in Lösung erhalten, der erst durch die Kupfersalze niedergeschlagen wird; anderseits erleidet

das Caseïn durch die unvermeidlich längere Dauer der Operationen trotz aller Vorsicht geringe Umwandlungen, die eine Vermehrung der nicht eiweissartigen Substanzen bedingen. Der Stickstoff im Extractionsrückstande gehört wenigstens zum grössten Theile dem unlöslich gewordenen Caseïn an, sein Percentsatz wird gesteigert durch längeres Erhitzen und höheres Alter der Sojabohne.

Analytische Methoden.

Zu sämmtlichen analytischen Untersuchungen dienten die bei 110° getrockneten, vorher durch Alkohol entwässerten, staubfeinen Präparate. Die Asche wurde nach Ritthausen's Vorschlag durch Verbrennen der mit ausgeglühten $Ca_3 2PO_4$ gemischten Substanz ermittelt. Schwefel und Phosphorsäure bestimmten wir anfänglich durch Schmelzen mit KHO oder $Ba(HO)_2$ und $NaNO_3$, die dabei durch Verstäuben oder Verspritzen häufig unvermeidlichen Verluste veranlassten uns, von dieser Methode abzugehen und die Substanz in concentrirter NO_3H zu lösen, abzudampfen, den Rückstand mit Soda zu glühen und in der salpetersauren Lösung desselben die Schwefelsäure mit $BaCl_2$, im Filtrate davon die Phosphorsäure mit Molybdänsäure zu fällen. Die Verbrennungen wurden mit chromsaurem Blei in der bekannten Weise vorgenommen. Die Stickstoffbestimmungen nach Dumas, mit der Modification, dass am offenen Ende des über 1 Met. langen Rohres eine Schicht gekörntes CuO vorgeschlagen[1] und ferner die CO_2-Entwicklung mehrmals unterbrochen wurde, um das Rohr luftleer zu pumpen. Als CO_2-Quelle benützten wir $NaHCO_3$, das sich unter allen empfohlenen Entwicklern am besten bewährte, als metallisches Kupfer im Wasserstoffstrome reducirtes und in CO_2 erkaltetes körniges CuO. Die gefundenen Stickstoffmengen stimmten immer sehr gut überein und schwankten nur innerhalb 0·1% . Dagegen gelang es uns nicht, durch Verbrennung mit Natronkalk im Caseïn ebensoviel Stickstoff wie nach Dumas oder wenigstens constante Zahlen dafür zu erhalten. Wir haben alle uns bekannt gewordenen Modificationen versucht, immer aber geringere oder schwankende Mengen gefunden. Lange und kurze

[1] Im hiesigen Laboratorium übrigens seit jeher gebräuchlich.

Röhren, sehr hohe oder mässige Temperatur, verschiedene Zusätze, sowohl blos mit der Substanz gemischt, als auch mit dem Natronkalk vor und hinter derselben, Titration der vorgeschlagenen Schwefelsäure mit Baryt oder Fällung mit $PtCl_4$ in der vorgeschlagenen Salzsäure, verschiedene Formen der Absorptionsapparate etc., alle diese Variationen lieferten nur ein unbefriedigendes Resultat; den relativ höchsten Stickstoffgehalt ergab noch die unverändert nach den Vorschriften Will-Varentrapp's ausgeführte Verbrennung. Nachdem es uns nicht an der nöthigen Übung und Umsicht gefehlt hat, da jeder von uns vorher bereits Hunderte von Stickstoffbestimmungen nach Will-Varentrapp ausgeführt hatte, so muss die Unbrauchbarkeit der Methode für den vorliegenden Fall im Principe derselben begründet sein. Zur Illustration des Gesagten seien aus der grossen Zahl der ausgeführten Analysen einige hier mitgetheilt.

Verbrennung des Caseïnpräparates *C* mit Natronkalk.

1. Nach Vorschrift Will-Varentrapp's . .	15·99% N
2. „ „ „ „ . .	15·95
3. Langes Rohr, hohe Temperatur	15·49
4. Kurzes „ „ „	15·53
5. Langes „ dunkle Rothglut	15·21
6. Kurzes „ „ „	15·41
7. Substanz mit Zucker gemischt	15·31
8. „ „ „ langes Rohr	15·22
9. „ und Natronkalk mit Zucker gemischt	14·49
10. Substanz mit weinsaurem Kalk gemischt .	14·80
11. Natronkalk mit Ätzbaryt gemischt . . .	14·79
12. „ und Substanz mit xanthogens. Kali gemischt	15·65

u. s. f.

Dieselbe Substanz ergab nach der Dumas'schen Methode:

	16·27% Stickstoff
	16·22 „
	16·18 „
im Mittel . .	16·22% Stickstoff.

Ganz wider Erwarten erwies sich jedoch die Verbrennung mit Natronkalk zur Stickstoffbestimmung in den Kupferniederschlägen und in der ganzen Soja vollkommen brauchbar, zum Theil lässt sich diese Thatsache wohl durch den geringeren Stickstoffgehalt dieser Substanzen erklären, der zur Folge hat, dass der gleiche procentische Fehler weniger in die Augen springend wird; immer trifft aber dies doch nicht zu, wie aus der folgenden Tabelle unter Kupferniederschlag *c* ersichtlich ist. Es enthalten 100 Theile Trockensubstanz Stickstoff:

	nach Will-Varentrapp	nach Dumas
Sojabohne.....	7·17%	...7·23%
„	7·21	
Kupferniederschlag *a*..	6·10	6·04
„ *b*..	3·02	3·09
„ *c*..	10·79	10·84

Daraus geht unzweifelhaft hervor, dass, obwohl die Will-Varentrapp'sche Methode zur Stickstoffbestimmung im reinen Caseïn unbrauchbar ist, dieselbe dennoch bei der Futteranalyse der ganzen Sojabohne ohne Bedenken angewendet werden kann. Auf jeden Fall müsste man jedoch, um ganz correct vorzugehen, zur Berechnung des Proteïngehaltes derselben den gefundenen Stickstoff nicht mit 6·25, sondern mit 6·1 multipliciren, entsprechend dem etwas höheren Stickstoffgehalt der Eiweisskörper der Soja, gegenüber dem conventionell angenommenen und dem ersteren Factor zu Grunde gelegten.

B. Die stickstofffreien Bestandtheile.

Unter diesen nehmen die in Äther löslichen und darunter wieder besonders das Fett, sowohl seiner Menge als Bedeutung nach, die hervorragendste Stelle ein. Über die Bereitung des Ätherextractes wurde bereits Mittheilung gemacht; es erübrigt hier nur mehr, über die weitere Trennung der im Äther löslichen Bestandtheile zu berichten. Diese stellen nach dem Verjagen des Äthers und mehrmaligem Ausschütteln des Rückstandes mit

warmen Wasser ein goldgelbes bis gelbbraunes Öl dar, das sich nach einiger Zeit in einen flüssigen und festen Antheil scheidet. Ersterer besteht aus fast reinem Fett, letzterer enthält ausserdem noch einige andere Körper und lässt sich durch heissen Alkohol zunächst in einen darin löslichen und einen unlöslichen Theil trennen. Giesst man das in heissem Alkohol Gelöste ab, dampft ein, löst nochmals in wenig Alkohol und versetzt die Lösung mit alkoholischem Platinchlorid, so scheiden sich hiebei gelbe Flocken von Lecithin-Platinchlorid aus. Die davon abgegossene Flüssigkeit fällt man mit KHO, filtrirt, verseift mit $Ba(HO)_2 + BaCl_2$ und extrahirt die Barytseife mit Äther; dieser hinterlässt dann nach dem Verdunsten schuppenförmige Krystalle von Cholesterin. Den in heissem Alkohol unlöslichen Theil der festen Ausscheidung des Rohextractes verseift man mit Kalilauge, extrahirt die Seife mit Äther, zersetzt dieses ätherische Extract nach dem Verjagen des Lösungsmittels mit $CaCl_2$ und nimmt abermals in Äther auf. Nach dem Verdampfen desselben hinterbleibt ein Rückstand, der sich durch mehrmalige Behandlung mit Alkohol in Cholesterin, einen wachs- und einen harzartigen Körper zerlegen lässt. Die Menge des Lecithins, Cholesterins, Wachses und Harzes zusammen beträgt etwa 5—10% des rohen Ätherextractes der Soja, der Rest, also 90—95%, besteht aus Neutralfetten. Das Sojafett enthält fast keine freien Fettsäuren, sondern besteht nahezu ausschliesslich aus neutralen Triglyceriden, von denen sich die der Stearinsäure und Palmitinsäure bei längerem Stehen oder niedriger Temperatur krystallinisch ausscheiden. Im frischen Zustande ist das Fett ölartig und hat den bekannten leguminosen Geschmack; nach längerer Aufbewahrung (2 Jahre) wird es ganz dickflüssig, jedoch nur sehr wenig ranzig. Nachträglich von Herrn C. Veutin im hiesigen Laboratorium ausgeführte Untersuchungen haben noch folgende Eigenschaften des Soja-Öles festgestellt. Das specifische Gewicht beträgt 0·8900 bei 15° C., 1 Grm. Soja-Öl braucht 191·8 Mgr. KOH zur Verseifung. Die Gesammtmenge der Fettsäuren beträgt 94·5%; der Erstarrungspunkt derselben liegt bei 25·4° C. Gegen Natronlauge und Säuren verschiedener Concentration (Calvert's Probe) zeigt das Soja-Öl nachstehendes Verhalten:

Reagens	Spec. Gewicht desselben	Gemisch von Öl und Reagens	
		Farbe	Consistenz
NaOH.....	1·34	gelb	starr
H_2SO_4.....	1·47	weissgelb, in lichtbraun übergehend	flüssig
H_2SO_4.....	1·53	drap	schmierig
H_2SO_4.....	1·635	schmutzig braun	flüssig
HNO_3	1·18	weissgelb	flüssig
HNO_3	1·22	weissgelb	schmierig
HNO_3	1·33	schmutzig gelb	flüssig
$HNO_3+H_2SO_4$	—	dunkelrothbraun	schmierig

Mit Quecksilber und Salpetersäure zusammengebracht (Massie'sche Probe)[1] gibt das Soja-Öl eine besonders charakteristische Reaction; das Gemisch wird zuerst rothbraun, welche Farbe nach 1—2 Tagen in ein lebhaftes Orangegelb übergeht, wobei das Gemenge zwar dickflüssiger wird, jedoch nicht erstarrt, sondern eine schmierige Consistenz beibehält.

Der durch Äther erschöpfte Soja-Rückstand enthält an stickstofffreien Bestandtheilen: eine kleine Menge reducirenden Zucker und beiläufig 10% rechts polarisirendes und durch Alkohol fällbares Dextrin. Ausserdem Stärke, schätzungsweise weniger als 5% und Cellulose. Die Stärkekörnchen der Soja, die sich erst nach der Entfernung des Fettes mit Jod bläuen, sind ausserordentlich klein; die grössten noch immer kleiner als die Bruchstücke der Reisstärke, die kleinsten etwa von der gleichen oder

[1] Journal de Pharm. et Chemie 1870.

noch geringeren Grösse wie die kleinsten Weizenstärkekörnchen. Die Form derselben ist linsenförmig mit theils kreisrunder, theils ellyptischer Contour. In den Zellen liegen die Stärkekörnchen in Gruppen beisammen, die oft das Bild geben, als ob die ganze Gruppe nur ein zusammengesetztes Korn wäre, was aber nicht der Fall ist, oder auch, als ob, ähnlich wie bei der Zelltheilung Mutter- und Tochterzelle, hier grosses und kleines Korn an einer Stelle noch zusammenhängen würden.

Am Schlusse der vorliegenden Mittheilung angelangt lassen sich die Ergebnisse unserer Untersuchung der Soja-Bohne folgendermassen kurz zusammenfassen:

1. Die Soja enthält keine Kleberproteïnstoffe und nur sehr geringe Mengen von Amidokörpern.
2. Der in Kaliwasser lösliche Eiweisskörper ist identisch mit dem durch Wasser oder 10%ige NaCl-Lösung extrahirten und erweist sich als Caseïn, das dem Legumin aus Hülsenfrüchten am nächsten kommt. Im aschefreien Zustande besteht es aus: C = 51·24%, H = 6·99%, N = 16·38%, S = 0·47%, O = 24·92%.
3. Die aus dem Filtrat vom Caseïn beim Kochen niederfallende als Albumin bezeichnete Eiweisssubstanz unterscheidet sich durch ihre Zusammensetzung und ihre Eigenschaften wesentlich vom gewöhnlichen Albumin, gleicht dagegen sehr dem Albumin aus Erbsen. Das Soja-Albumin ist möglicherweise ein Umwandlungsproduct des Caseïns und enthält aschefrei: C = 52·58%, H = 7·00%, N = 17·27%.
4. Die aus den Mutterlaugen vom Caseïn und Albumin durch Kupfersalze abgeschiedenen stickstoffhältigen Niederschläge bestehen zum grössten Theile aus Kupferoxydverbindungen des der Fällung entgangenen Caseïns, verunreinigt mit stickstofffreien Substanzen.
5. Der Stickstoff in dem durch Kaliwasser erschöpften Rückstand der Soja gehört dem unlöslich gewordenen Caseïn an. Durch längere Aufbewahrung oder Rösten der Sojabohne wird die Menge desselben vermehrt, indem schliesslich fast das ganze Caseïn in die unlösliche Modification übergeht.

6. Von den im Kaliwasser löslichen stickstoffhältigen Bestandtheilen der Soja entfallen über 90% auf das Caseïn und 1·5—2% auf das Albumin.
7. Die Verbrennung mit Natronkalk ist zur Bestimmung des Stickstoffs im Caseïn nicht brauchbar, unbedenklich anwendbar dagegen zur Ermittlung desselben in der ganzen Soja.
8. Der in Äther lösliche Theil der Soja besteht aus 90—95% Neutralfett und 5—10% Cholesterin, Lecithin, Wachs und Harz.
9. Unter den übrigen stickstofffreien Bestandtheilen finden sich ausser Cellulose eine kleine Menge Zucker, annähernd 10% Dextrin und weniger als 5% Stärke; letztere in sehr kleinen, runden Einzelnkörnern.
10. Nach den vorliegenden Untersuchungen ist die Zusammensetzung der Soja-Bohne in runden Zahlen folgende:

Wasser	10 %
Lösliches Caseïn	30
Albumin	0·5
Unlösliches Caseïn	7
Fett	18
Cholesterin, Lecithin, Harz, Wachs	2
Dextrin	10
Stärke (weniger als)	5
Cellulose	5
Asche	5

Zucker, Amidokörper u. dgl. kleine Mengen.